BD BBL Dermatoslide

APPLICATION

La **BBL Dermatoslide** est un système de lames à deux faces destiné à la détection et à l'isolement de champignons pathogènes à partir d'infections superficielles de la peau, des cheveux et des ongles.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Les champignons jouent un rôle majeur dans les infections de la peau et de ses organes adjacents, comme les cheveux ou les ongles. En général ce sont les champignons mycéliens comme *Trichophyton, Epidermophyton* et *Microsporum,* mais aussi d'autres qui sont le plus fréquemment identifiés comme étant les agents infectieux. Des espèces de levures telles que *Candida albicans* peuvent aussi être à l'origine de cas d'infections superficielles de la peau. Pour permettre une identification et un traitement approprié, des milieux d'isolement sélectifs et non sélectifs doivent être utilisés pour détecter les agents impliqués.

Le milieu 1 est une Dermatophyte Test Medium Agar modifiée selon les indications de Taplin pour la détection de dermatophytes, particulièrement (mais non exclusivement), *Trichophyton, Epidermophyton* et *Microsporum* spp. Dans ce milieu, les peptones fournissent de l'azote nécessaire à la croissance et sont la source des éléments alcalins produits par les dermatophytes.[1] Lorsque les peptones sont métabolisées en éléments alcalins, l'indicateur au rouge de phénol passe du jaune au rouge. Du glucose est ajouté en tant qu'élément nutritif et pour permettre une acidification par les champignons capables d'utiliser principalement le glucose. La plupart des champignons autres que les dermatophytes, y compris les levures et les moisissures (si elles sont capables de se développer dans le milieu), utilisent le glucose. Il en résulte une formation d'acide, sans changement de couleur de l'indicateur de pH, le rouge de phénol.[2,3] Le cycloheximide est un inhibiteur pour les moisissures et les levures non pathogènes. Le chloramphénicol et la gentamicine sont des inhibiteurs antibactériens. Quelques microorganismes, notamment les saprophytes, les levures et les bactéries, sont capables de se développer dans ce milieu et de faire passer l'indicateur de pH du rouge au jaune. La morphologie caractéristique de leurs colonies facilite leur identification.
Le milieu 2 est une Malt agar, pour la détection des levures. Ce milieu est utilisé pour la détection de tous les types de champignons, y compris les moisissures et levures. L'extrait de malt contient toutes les substances nutritives nécessaires à la croissance des champignons. Le faible pH du milieu entraîne une inhibition partielle à complète des bactéries contaminantes mais est bien toléré par les champignons.[4,5]

La **BBL Dermatoslide** est utilisée pour l'isolement primaire des champignons, en particulier des dermatophytes, à partir de diverses infections superficielles. Elle peut également être utilisée comme milieu de transport, pour acheminer les échantillons à partir du cabinet médical jusqu'au laboratoire d'analyse.

REACTIFS

BBL Dermatoslide

Formule* par litre d'eau purifiée

Milieu 1		Milieu 2	
Digestion pancréatique de caséine	15,0 g	Extrait de malt	30,0 g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0	Gélose	18,0
Chlorure de sodium	5,0	pH 4,0 ± 0,2	
Gélose	20,0		
Glucose	10,0		
Rouge de phénol	0,2		
Cycloheximide	0,5		
Chloramphénicol	0,1		
Gentamicine	0,1		
pH 5,5 ± 0,1			

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRÉCAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de lames présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Lors de l'utilisation de la **BBL Dermatoslide** en tant que milieu de transport entre un cabinet médical et un laboratoire de diagnostic, respecter la réglementation locale en vigueur concernant l'expédition d'échantillons cliniques.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations sur les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés. Porter des gants de protection lors du prélèvement et de la manipulation d'échantillons et de lames positives contenant des agents infectieux.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les produits **BBL Dermatoslide** dans l'obscurité entre 15 et 20 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler, les surchauffer, les laisser se dessécher, ni les soumettre à des variations de température.

Les lames non ouvertes provenant de boîtes de 10 lames déjà entamées peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée.

Une fois ouvertes, les lames doivent être utilisées immédiatement.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Préparer des suspensions des souches mentionnées ci-dessous, jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à un standard McFarland 0,5. Pour chaque microorganisme, préparer un tube (d'une largeur suffisante pour y introduire un support de gélose **BBL Dermatoslide**) avec 20 à 25 mL de sérum physiologique et ajouter 1 mL de la suspension de la souche ci-dessus. Ouvrir une **BBL Dermatoslide**, retirer le support de gélose, le plonger brièvement dans la suspension de la souche de test et passer à l'étape concernant les échantillons liquides décrite dans **Mode opératoire du test**. Incuber pendant 5 à 7 jours à 35 ± 2 °C. Examiner les surfaces de la gélose comme décrit sous **Résultats et interprétation** afin de détecter une croissance éventuelle.

Souches	Milieu 1	Milieu 2
Trichophyton mentagrophytes ATCC 9533	Croissance	Croissance*
Candida albicans ATCC 10231	Croissance	Croissance
Candida glabrata ATCC 2001	Inhibition partielle à complète	Croissance
Aspergillus niger ATCC 16404	Inhibition complète	Croissance
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Inhibition complète	Inhibition partielle à complète
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibition complète	Inhibition partielle à complète
Sans ensemencement	Jaune, transparent à légèrement opaque	Incolore à légèrement ambré.

*Noter que dans ce milieu, la croissance des dermatophytes est susceptible d'être plus faible ou plus lente que dans le milieu 1.

METHODE

Matériaux fournis

BBL Dermatoslide. Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, matériel de laboratoire et dispositifs de prélèvement requis.

Types d'échantillons

La **BBL Dermatoslide** peut être utilisée avec tous les échantillons présumés contenir des champignons responsables d'infections de la peau, des cheveux, des ongles, etc.

Prélèvement d'échantillons, ensemencement et mode opératoire du test

Avant d'ouvrir et d'utiliser la **BBL Dermatoslide***,* inspecter visuellement les surfaces de la gélose pour s'assurer de sa stérilité.
Etiqueter le tube avec le nom du patient, le numéro de l'échantillon et la date de l'ensemencement.
Avant l'ensemencement, retirer la lame du tube plastique, en prenant soin de ne pas toucher les surfaces de la gélose.

Peau : Avant de retirer les squames, nettoyer le site infecté avec de l'alcool éthylique ou isopropylique dilué à 70 %. Toujours utiliser des instruments stériles lors du prélèvement des échantillons. Gratter à l'aide d'un scalpel afin de retirer les squames des lésions sèches ou décollées, en partant des limites de la zone enflammée et en progressant en direction de la peau saine. Les scalpels jetables peuvent facilement endommager la peau (utiliser si possible uniquement le dos de la lame). Gratter soigneusement les zones étendues et prélever autant de matière que possible. En cas de lésions vésiculaires ou d'inflammation aiguë, retirer délicatement la peau des cloques avec des ciseaux et des pinces. L'échantillon prélevé doit être cultivé avec le contenu de la cloque et, dans la mesure du possible, avec des squames issues de la zone avoisinante.
En présence d'infiltrats ou de processus granulomateux, prélever la matière en profondeur et dans les plis de la peau à l'aide d'une curette ou d'une lancette à vacciner. Recueillir la matière sur un morceau de papier filtre ou directement sur la **BBL Dermatoslide***.*
Si les échantillons sont prélevés selon la méthode des répliques, il convient de gratter délicatement les couches superficielles de la peau avec un instrument coupant, puis de presser délicatement les différentes faces de la **BBL Dermatoslide** contre la zone à tester, en commençant avec le milieu 1.

Cheveux : Extraire les racines des cheveux ternes et sans éclat à l'aide de pinces. Les cheveux infectés sont cassants et se détachent plus facilement que des cheveux sains. Si une lampe de Wood est utilisée, prélever les cheveux fluorescents, même s'ils semblent sains à la lumière du jour. En cas d'observation de ce qui est communément désigné sous le terme « points noirs », extraire le cheveu infecté hors du bulbe à l'aide du bord d'un scalpel. Ne pas utiliser de cheveux coupés comme échantillon. Répartir les cheveux sur les deux milieux de la lame. Appliquer doucement les cheveux sur la gélose à l'aide de pinces.

Ongles : En cas d'infection sous-unguéale, toutes les parties particulièrement déformées de la surface de l'ongle doivent être retirées avec des ciseaux, une lime à ongle ou un scalpel. Des fragments d'ongle doivent alors être prélevés à partir du lit unguéal.
En cas d'infection superficielle, gratter des fragments d'ongle ou de petites particules en forme de poussières de la surface de l'ongle. Ne pas ensemencer la **BBL Dermatoslide** avec de gros fragments coupés à partir des ongles extraits. Utiliser de préférence une fraise à ongles. Ensemencer les deux faces de la lame avec l'échantillon.

Echantillons prélevés par écouvillonnages ou à l'aide de pinces : Répartir uniformément la matière sur les deux milieux gélosés (en commençant par la gélose 1) à l'aide d'un écouvillon stérile ou de pinces stériles. A l'aide de pinces, presser légèrement les particules les plus grosses sur la gélose, afin de garantir que l'échantillon est bien en contact avec la surface de la gélose. Noter que les écouvillons issus de zones infectées ne sont pas des échantillons appropriés pour le prélèvement de dermatophytes.

Pour une description détaillée des méthodes de prélèvement des échantillons, consulter les documents cités en référence.[3,4,6]

Après le prélèvement et l'ensemencement de l'échantillon, replacer la lame à l'intérieur du tube et bien refermer le bouchon.
Incuber la **BBL Dermatoslide** entre 25 et 30 °C jusqu'à 4 semaines. Inspecter quotidiennement les surfaces de la gélose.
Les lames ensemencées peuvent aussi être expédiées à des laboratoires spécialisés, pour traitement supplémentaire ou identification des pathogènes.

Résultats
Après l'incubation, inspecter visuellement les surfaces de la gélose sans ouvrir le tube.
Milieu 1 : La croissance de dermatophytes entraîne un changement de couleur du milieu situé sous les colonies, qui vire du jaune au rouge avant même que ces dernières n'aient atteint leur développement complet. Au fur et à mesure que la croissance se développe, la couleur du milieu tout entier évolue vers le rouge, et un mycélium blanc, gris, ou jaunâtre devient visible. L'échantillon est considéré négatif aux dermatophytes si aucune croissance n'est visible après incubation dans ce milieu.

Certaines moisissures saprophytes sont susceptibles de se développer dans le milieu 1. Toutefois, dans ce cas, les colonies et le mycélium apparaissent généralement avant que le milieu ne change de couleur. Certaines levures résistantes au cycloheximide (par ex. *Candida albicans)* peuvent aussi provoquer un changement de couleur du milieu, du jaune au rouge, après une incubation prolongée. Les levures peuvent être différenciées des dermatophytes car elles forment des colonies lisses, dénuées de mycélium.

Milieu 2 : Tous les champignons (y compris les levures) peuvent se développer sur ce milieu. Les levures sensibles au cycloheximide *(Candida tropicalis, Candida parapsilosis, Candida krusei, Candida [=Torulopsis] glabrata,* et autres) se présentent généralement sous forme de colonies lisses sur le milieu 2 mais ne se développent pas sur le milieu 1.
Noter que certains dermatophytes présents sur le milieu 2 nécessitent une période d'incubation plus longue que sur le milieu 1, faute de quoi leur croissance risque d'être limitée.

Noter que des tests supplémentaires, tels que des procédures microscopiques et/ou biochimiques, sont nécessaires pour obtenir une identification complète des pathogènes isolés sur cette lame immergée.[3,4] La plupart de ces méthodes sont uniquement applicables en laboratoire de diagnostic et ne peuvent pas être réalisées dans un cabinet médical standard. Par conséquent, toutes les lames immergées présentant des résultats nettement positifs ou indéterminés doivent être transmises à un laboratoire d'analyse à même d'exécuter les tests mycologiques.

Après utilisation, autoclaver ou incinérer tous les tubes usagés et tout autre matériel contaminé, avant de les éliminer. Pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD BBL Dermatoslide** est une lame immergée à deux faces qui convient à l'isolement des champignons et qui doit être utilisée uniquement pour la mise en évidence de champignons impliqués dans des cas d'infections superficielles (peau, cheveux et ongles).[2-5]
Le milieu 1 est un milieu sélectif standard pour les dermatophytes (p. ex. *Trichophyton, Epidermophyton* et *Microsporum* spp.).[3,5] De plus, les levures résistantes au cycloheximide, comme *Candida albicans,* peuvent se développer sur ce milieu. Ce milieu inhibe les bactéries. Certains champignons pathogènes, dont certaines souches de *Microsporum,* sont inhibés par le cycloheximide contenu dans ce milieu. Cependant, ces souches peuvent se développer sur le milieu 2 de cette lame immergée.
Le milieu 2 est un milieu d'isolement universel pour les champignons, notamment les espèces saprophytes. La plupart des bactéries susceptibles d'être présentes en tant qu'agents contaminants ou pathogènes, sont inhibées par le faible pH de ce milieu.[2,6]

Le nombre d'espèces qui peuvent se développer dans les milieux de cette lame gélosée est important et ne se limite pas à ceux mentionnés sous la rubrique **Résultats et interprétation**.
La **BD BBL Dermatoslide** est conçue pour l'isolement et le dénombrement primaire. Pour réaliser des tests supplémentaires, en particulier si des cultures mixtes sont observées dans les milieux de ce système, repiquer dans des milieux d'étalement appropriés, afin d'obtenir des cultures pures, indispensables à l'identification complète et à la réalisation de tests de sensibilité.[3,6]
Les lames immergées ne doivent pas être utilisées pour effectuer des tests de sensibilité sur disque.

REFERENCES

1. Taplin, D., et al. 1969. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). Arch. Dermatol. 99: 203.
2. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. Summerbell, R.C. 2003. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. 3rd edition. ASM Press, Washington.
5. Atlas, R.M. 1993. Handbook of Microbiological media. CRC Press, Boca Raton, FL.
6. Sutton, D.A. 2003. Specimen collection, transport, and processing: mycology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT

BBL Dermatoslide

N° réf. 273191	10 lames

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company